



## ЭКОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ

УДК 639.24

### ИЗМЕНЕНИЕ ЛИПИДНОГО СТАТУСА И ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ СТЕРЛЯДИ ПРИ ЗАВОДСКОМ СОДЕРЖАНИИ

© 2012 **Н.А. Абросимова, С.С. Абросимов.**

Филиал ФГБОУ ВПО Московского государственного университета технологий и управления им. К.Г. Разумовского в г. Ростове-на-Дону,

Сравнительный анализ показателей липидного статуса, процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы в печени и мышцах 5-леток донской стерляди из прудов осетровых рыбоводных заводов и естественной популяции не выявил отклонений от физиологической нормы. Некоторые отличия по исследованным показателям, вероятно, отражают компенсаторные реакции организма на специфические условия выращивания.

Comparative analysis of lipid parameters, lipid peroxidation processes and antioxidant system in liver and muscles of five-year-old sterlet raised at the sturgeon fish-breeding farm and from the wild population has not revealed any deviations from the physiological norm of the fish. Some minor differences in the parameters studied reflect, possibly, compensatory reactions of the organism to the specific conditions of breeding.

**Ключевые слова:** стерлядь, производители, общие липиды, фосфолипиды, гидроперекиси, супероксиддисмутаза,  $\alpha$ -токоферол, витамины.

**Key words:** sterlet, breeders, total lipids, phospholipids, hydroperoxides, superoxide dismutase,  $\alpha$ -tocopherol, vitamins.

В результате антропогенного преобразования стока рек, их загрязнения промышленными, сельскохозяйственными и бытовыми стоками, на протяжении нескольких десятилетий популяция донской стерляди находится в депрессивном состоянии. По существу к середине XX столетия встала проблема ее сохранения в Азово-Донском районе как редкого вида. Являясь единственным в наших водах пресноводным представителем осетровых, обладающим исключительно высокими вкусовыми и потребительскими качествами, стерлядь, несомненно, является одним из перспективных объектов пресноводной аквакультуры.

Для сохранения и восстановления популяции донской стерляди были проведены комплексные рыбоводно-биологические, экологические и физиолого-биохимические исследования, что позволило разработать биотехнологии ее разведения и выращивания, в том числе формирования ремонтно-маточного стада, с учетом экологических особенностей Азово-Донского региона. Однако до настоящего времени остаются открытыми ряд вопросов, решение которых позволит улучшить рыбоводные качества производителей стерляди при их выращивании и содержании в условиях прудов рыбоводных заводов.

Задача наших исследований – изучение возможных изменений в организме производителей стерляди в условиях заводских прудов в связи с изменениями условий жизни.

**Материал и методы исследований.** Материалом исследований были производители донской стерляди в возрасте 5 лет, содержащиеся в прудах донских осетровых заводов. Для сравнения использовали одновозрастных производителей стерляди, выловленных в районе Кочетовского гидроузла (Нижний Дон).

Учитывая, что адекватным показателем влияния внешней среды на состояние рыб являются показатели процессов свободнорадикального окисления в организме, в частности, перекисного окисления липидов (ПОЛ) и связанный с ними липидный обмен, изучали липидный статус производителей, уровень продуктов ПОЛ и антиоксидантов.

Липидный статус рыб оценивали по фракционному составу общих липидов и фосфолипидов в печени и мышцах. Характер процессов перекисного окисления липидов определяли по уровню гидроперекисей (малонового диальдегида, диеновых конъюгатов и основания Шиффа), активности суперок-



сидисмутазы и  $\alpha$ -токоферола в печени и мышцах. Уровень витаминов А, С, В<sub>1</sub> и В<sub>2</sub> изучали в мышцах.

Для разделения липидов на классы использовали метод тонкослойной хроматографии [1] с предварительным экстрагированием их по Фолчу [2]. В качестве сорбента применяли закрепленный слой силикагеля "LS 5/40 1m 0" (Chemapol) + 13% гипса. Разгонку липидов осуществляли в системе растворителей – гексан:диэтиловый эфир:ледяная уксусная кислота в соотношении 80:20:2.

Холестерин определяли по методу Либермана-Бурхарда, эфиры холестерина – с использованием дигитонина, глицеринов – по цветной реакции с хромотроповой кислотой [3].

Определение липоидного фосфора проводили стандартным методом [3]. При количественном определении спектра фосфолипидов использовали систему растворителей – хлороформ:метанол:вода в соотношении 65:25:4. При этом липиды разделялись на следующие фракции: инозитфосфатиды, лизофосфатидилхолины, сфингомиелины, фосфатидилхолины, фосфотидилэтаноламины, кардиолипины + полиглицерофосфатиды.

Уровень первичных продуктов перекисного окисления липидов – диеновых конъюгатов определяли по характерному для них ультрафиолетовому спектру поглощения на спектрофотометре "Hitachi", малонового диальдегида – по методу Э.Н. Коробейниковой [4], оснований Шиффа – по спектрам флюоресценции липидов на спектрофотометре "Hitachi".

Определение активности супероксиддисмутазы проводили гидроксиламиновым методом [5],  $\alpha$ -токоферола – флуорометрическим методом [6], витамина А – колориметрически [7], витамина С – по методу Тильман с соавторами [8], тиамина (В<sub>1</sub>) – флуорометрическим методом [9], рибофлавина (В<sub>2</sub>) – методом прямой флуорометрии [10].

Результаты исследований представлены в сравнительном аспекте. Показатели производителей севрюги из естественной популяции принимали за 100 %.

**Результаты исследований.** Для успешного выращивания и формирования маточного стада донской стерляди необходимо знание физиолого-биохимических аспектов обмена веществ рыб в различных условиях.

Гидрологические, гидрохимические и гидробиологические условия естественного ареала обитания рыб существенно отличаются от аналогичных условий в прудах, где выращивается и формируется ремонтно-маточное стадо. Это, в первую очередь, более высокие температуры в летний период и связанный с ним не всегда благоприятный кислородный режим при отсутствии течения, кормление комбикормами ввиду дефицита естественных кормов, которые к тому же отличаются видовым составом. Немаловажное негативное влияние может оказывать повышенная плотность рыб в прудах, контрольные обловы. Все перечисленные факторы являются стресс-факторами, дестабилизирующими процессы свободнорадикального окисления липидов и, соответственно, перекисное окисление липидов в организме рыб [11].

Исследование спектра липидов печени и мышц стерляди показало, что как у прудовых, так и речных рыб, в общих липидах преобладали фосфолипиды. Так, уровень фосфолипидов у прудовых рыб составлял соответственно 52,1 и 41,2%, а у рыб естественной популяции – 53,8 и 46,3%. Соответственно содержание фосфолипидов в печени прудовых производителей был ниже на 3,2%, в мышцах – на 11% (рис. 1).

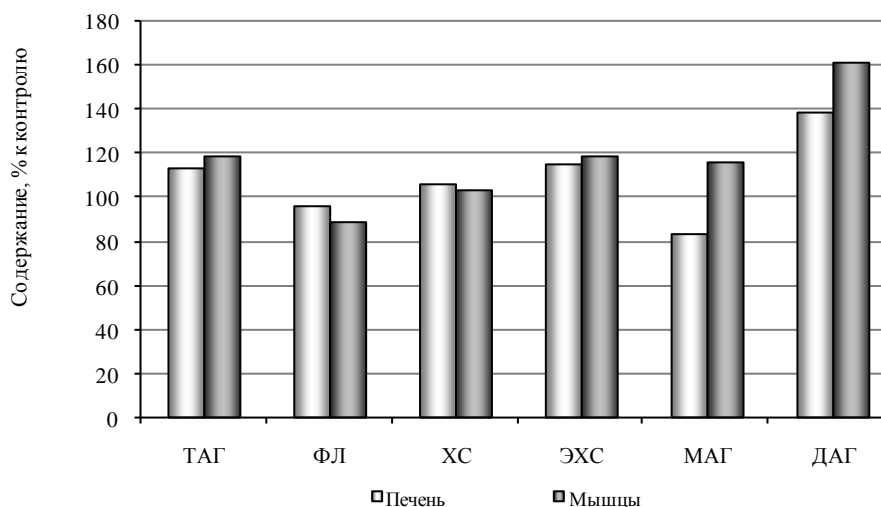
Содержание триацилглицеринов в печени и мышцах прудовых производителей превышало данный показатель у рыб естественной популяции соответственно на 13,3 и 18,8%, холестерина на 6,6 и 3,7%, эфиров холестерина – 15,2 и 40,5%, диацилглицеринов – 39,1 и 61,9% при уменьшении моноацилглицеринов в печени на 16,7 и увеличении в мышцах на 16,7% по сравнению с молодью естественной популяции. Уровень фосфолипидов был ниже на 3 и 11%.

В фосфолипидах печени и мышц обеих исследованных групп стерляди преобладали фосфатидилхолины и фосфатидилэтаноламины, доля которых составила более 78% всех фосфолипидов. Вместе с тем выявлены различия в содержании отдельных фосфолипидов печени и мышц у исследуемых рыб. Так, в печени заводской молоди содержание инозитфосфатидов на 38,5%, фосфатидилсеринов на 24,3% и фосфатидилэтаноламинов на 18% было меньше, а лизофосфатидилхолинов в 2,3 раза, сфингомиелинов на 66,7%, полиглицерофосфатидов с кардиолипинами на 23% больше в сравнении с рыбами из реки.

В мышцах заводской и речной стерляди эти различия были иными: меньше на 33,3% содержание инозитфосфатидов и на 25% полиглицерофосфатидов с кардиолипинами, и выше на 50% лизофосфати-

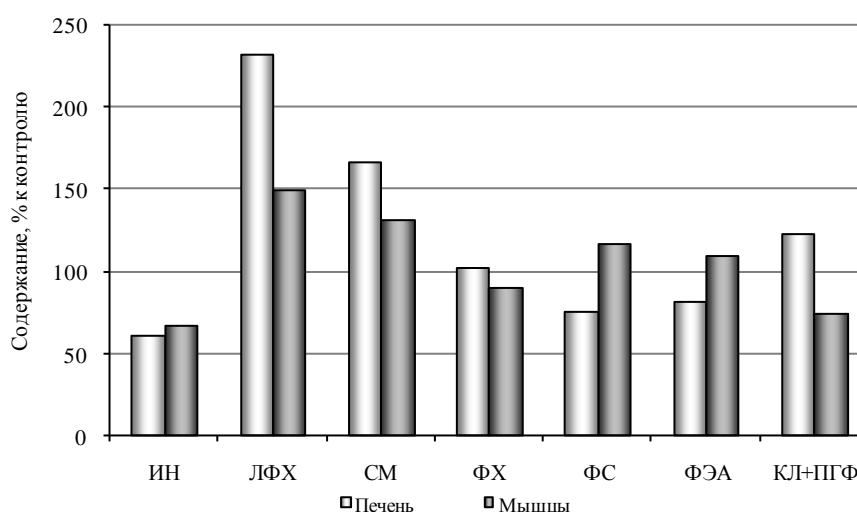


дилхолинов, на 32% сфингомиелинов, на 16,7% фосфатидилсеринов при незначительных отличиях уровня фосфатидилсеринов и фосфатидилэтаноламинов (рис. 2).



**Рис. 1.** Содержание отдельных фракций липидов в печени и мышцах производителей стерляди из прудов, % по отношению к контролю:

ТАГ – триацилглицерины, ФЛ – фосфолипиды, ХС – холестерин, ЭХС – эфиров холестерина, МАГ – моноацилглицерины, ДАГ – диацилглицерины

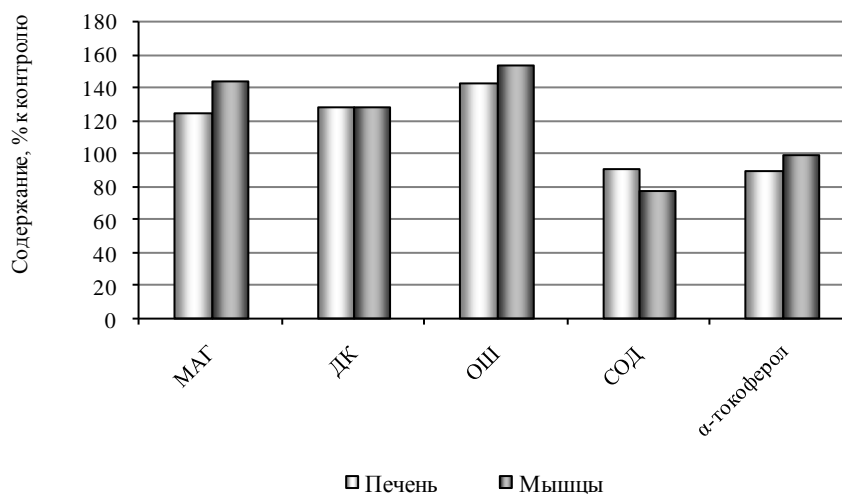


**Рис. 2.** Содержание отдельных фракций фосфолипидов в печени и мышцах производителей стерляди из прудов, % по отношению к контролю:

ИФ – инозитфосфатиды; ЛФХ – лизофосфатидилхолины, СФМ – сфингомиелины; ФХ – фосфатидилхолины; ФС – фосфатидилсерины; ФЭА – фосфатидилэтаноламины; КЛ+ПГФ – кардиолипин + полиглицерофосфатиды

Наиболее значимыми были различия в содержании инозитфосфатидов, лизофосфатидилхолинов и сфингомиелинов. Однако уровень этих фосфолипидов в печени и мышцах заводских рыб составлял 1,4-1,6, 1,2-1,4 и 10,3-12,0% от суммы фосфолипидов, что не превышает физиологической нормы.

Уровень продуктов перекисного окисления липидов у стерляди заводского выращивания был выше аналогичных показателей у рыб естественной популяции, что, по-видимому, связано с большей стрессовой нагрузкой у заводских рыб (рис. 3).

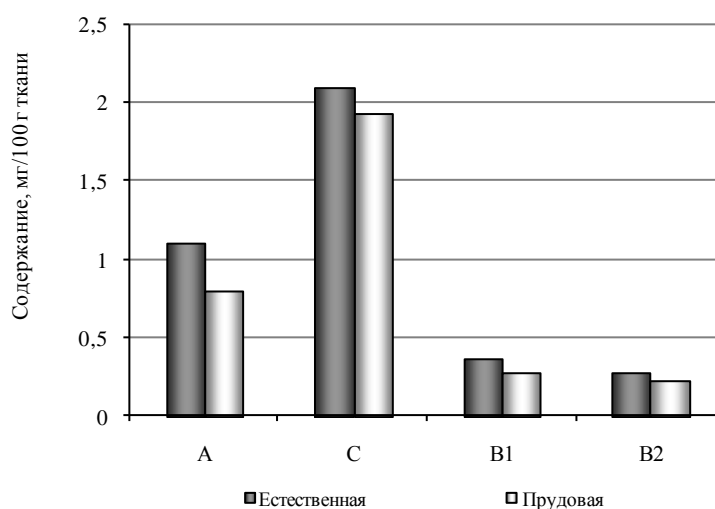


**Рис. 3.** Уровень гидроперекисей антиоксидантов в печени и мышцах производителей стерляди из прудов, % по отношению к контролю: МАГ – малоновый диальдегид, ДК – диеновые конъюгаты, ОШ – основания Шиффа, СОД – супероксиддисмутаза

Так, уровень малонового диальдегида, диеновых конъюгатов и оснований Шиффа в печени заводских производителей стерляди превышал аналогичные показатели у речных рыб на 25, 28 и 43%. Более существенны различия в повышении уровня в мышцах малонового диальдегида (на 45%) и оснований Шиффа (на 54%). Содержание диеновых конъюгатов повысилось на 28%.

По содержанию природных антиоксидантов – СОД и α-токоферола – печень заводской стерляди уступала рыбам из реки на 8,5 и 10,5% соответственно, а в мышцах по уровню СОД – на 22%. Однако содержание α-токоферола в мышцах заводских и речных производителей стерляди было на одном уровне.

Содержание витаминов в теле заводской стерляди, питавшейся с преобладанием искусственной пищи, было ниже по сравнению с аналогичными показателями у рыб естественной популяции: витамин А – на 27%, С – на 7,5%, В<sub>1</sub> и В<sub>2</sub> – на 22 и 15% соответственно (рис. 4).



**Рис. 4.** Уровень витаминов в мышцах производителей стерляди из прудов, мг/100 г ткани

Таким образом, несмотря на выявленные различия содержания различных липидов, в том числе фосфолипидов, в печени и мышцах одновозрастных заводских производителей стерляди, выращенных



в условиях прудов, и рыб из естественной популяции, а также продуктов перекисного окисления липидов, антиоксидантов и витаминов, их уровень находится в пределах физиологической нормы. По-видимому, эти различия отражают компенсаторные реакции организма на специфические условия выращивания. В целом физиологический статус заводских рыб свидетельствует о достаточно благоприятных условиях их содержания, в том числе питания.

Вместе с тем, выявленные различия свидетельствуют о возможности улучшения защитной системы рыб при выращивании в заводских условиях, что требует оптимизации кормов и кормления с учетом возрастных особенностей обмена веществ этих рыб.

### Библиографический список

1. Шталь Э. Хроматография в тонких слоях. М.: Мир, 1965. 633 с.
2. Folch J., Less M., Sloane K., Stanley Z. A Simple method for the isolation and pyrification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. 1957. Vol. 226, № 1. P. 497-510.
3. Абросимова Н.А., Абросимов С.С., Саенко Е.М. Кормовое сырье и добавки для объектов аквакультуры. Ростов-на-Дону: Эверест, 2005. 144 с.
4. Коробейникова Э.Н. Модификация определения перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой // Лабораторное дело. 1989. N 7. С. 8-10.
5. Yasuhira Kono. Generation of Superoxid radical during Antioxidation of Hydroxylamine and assay for SOD // Biochemistry and Biophys., 1983. Vol. 186. N 6. P. 119-195.
6. Taylor S.L., Lamden M.P., Tappel A.L. Sensitive Fluoremetric Metod for Tissue Tocopherol analys // Lipids. 1980. Vol. 10. N.6. P. 407-412.
7. Carr F.H., Prince E.A. Colour reactions attributed to vitamin A // Biochem. J., 1926. Vol. 20. P. 497-500.
8. Tillman J., Hirsch P., Jackisch J. Reduction capacity of hlant foodstuffs and its relation to vitamin C. 3. Quantity of reduction substance in various fruits and vegetables // Z. Untersuch. Lebensm., 1932. Bd. 63. P. 241-267.
9. Jansen B.C.P. A chemical determination of aneurin by the triochrome reaction // Rec. Trav. Chim. Phys., 1936. Vol. 55. P. 1046-1049.
10. Peason W.N. Riboflavin // The vitamins, 2<sup>nd</sup> ed. N.Y. and London: Academic Press, 1967. Vol. VII. P. 99-136.
11. Абросимов С.С. Стресс-факторы и их влияние на физиолого-биохимический статус молоди осетровых // Научный журнал. Тр. Кубанского гос. аграрного ун-та, 2008. Вып. 3 (12). С. 93-98.

### Bibliography

1. Shtal E. Chromatography in a thin layers. - M.: The world, 1965. - p.633
2. Folch J., Less M., Sloane K., Stanley Z. A Simple method for the isolation and pyrification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. - 1957. - Vol. 226, № 1. - P. 497-510.
3. Abrosimova N.A., Abrasimov S.S., Saenko E.M. Fodder raw materials and additives for aquaculture facilities. - Rostov: «Everest», 2005. - p.144
4. Korobeinikova E.N. Modification of the definition of lipid peroxidation in the reaction with thiobarbituric acid. // Laboratory work. - 1989.-N 7. - p.8-10
5. Yasuhira Kono. Generation of Superoxid radical during Antioxidation of Hydroxylamine and assay for SOD // Biochemistry and Biophys., 1983.- Vol. 186.- N 6.- P. 119-195.
6. Taylor S.L., Lamden M.P., Tappel A.L. Sensitive Fluoremetric Metod for Tissue Tocopherol analys // Lipids.- 1980.- Vol.10.- N.6.- P.407-412.
7. Carr F.H., Prince E.A. Colour reactions attributed to vitamin A//Biochem. J., 1926. - Vol. 20. - P. 497-500.
8. Tillman J., Hirsch P., Jackisch J. Reduction capacity of hlant foodstuffs and its relation to vitamin C. 3. Quantity of reduction substance in various fruits and vegetables//Z. Untersuch. Lebensm., 1932. - Bd. 63. - S. 241-267.
9. Jansen B.C.P. A chemical determination of aneurin by the triochrome reaction//Rec. Trav. Chim. Phys., 1936. - Vol. 55. - P. 1046-1049.
10. Peason W.N. Riboflavin// The vitamins, 2<sup>nd</sup> ed. N.Y. and London: Academic Press, 1967. - Vol. VII. - P. 99-136.
11. Abrosimov S.S. Stress-factors and their influence on physiological and biochemical status of sturgeon fingerlings// Scientific journal. The works of the Kuban State Agrarian University, 2008. - Issue 3 (12). - p.- 93-98.